

## NOTA SÓBRE A ANATOMIA DA FOLHA DE COCCOLOBA CEREIFERA SCHWAKE

por

F. R. MILANEZ

Chefe da S. E. G. do J. Botânico

Durante a excursão à Serra do Cipó, levada a efeito pelos membros da Sociedade Botânica do Brasil em sua segunda reunião anual, chamou-nos a atenção certa planta, muito frequente em ambas as margens da estrada, tanto pela côr violácea da epiderme, especialmente nas porções mais jovens, quanto pela rigidez incomum das folhas adultas. Tratava-se da *Coccoloba cereifera*, classificada por SCHWAKE (9) e já várias vêzes coletada naquele local — informou-nos o botânico J. G. Kuhlmann.

Os fragmentos de folha adulta, trazidos ao laboratório, achavam-se secos e muito duros, razão por que os amolecemos pela mistura de álcool, água e glicerina, a quente, antes de os incluímos em parafina pelo método do higrobutol, de JOHANSEN (7).

Os cortes, com cerca de  $25\mu$  de espessura, obtidos ao micrótomo de deslize (Spencer) foram desembaraçados da parafina e, a seguir, hidratados; o clareamento pelo hipoclorito (água sanitária diluída) permitiu melhor coloração mas obstou se conhecessem os conteúdos celulares. Após dupla coloração pela safranina hidroalcoólica e pelo verde rápido dissolvido em óleo de cravo (esta última precedida naturalmente de desidratação) foram os cortes montados em bálsamo do Canadá.

(\*) Entregue para publicação a 27 de Junho de 1951.



O presente estudo se baseia, portanto, em observações efetuadas sôbre cortes de folhas adultas, cujos elementos celulares tiveram seus conteúdos destruídos.

#### ÉPIDERME.

É constituída de elementos dispostos em camada simples e providos de grandes vacúolos cujo conteúdo antociânico responde pela côr violácea, já referida, das porções jovens da planta.

A cutícula é relativamente espessa, de superfície lisa, sem estrias, recoberta por delgada camada de cêra — razão do nome específico. Êsse revestimento céreo é descontínuo na face ventral; na dorsal, sobretudo nas folhas jovens, êle é apenas interrompido pelas aberturas supraestomáticas e pelas nervuras salientes.

Outro caráter comum às epidermes das duas faces consiste na presença de espessamentos discretos da parede, provàvelmente de natureza mucilaginosa. GROSS (5) e METCALFE e CHALK (8) mencionam tais espessamentos para *Coccoloba* spp., nas células da epiderme superior: na espécie em estudo, êles são comuns a ambas as epidermes, embora mais pronunciados na inferior, na parte interna das membranas periclíneas externas (V. foto 4).

Finalmente, ainda como caráter geral, convém citar a ausência de ondulações nas paredes anticlíneas das células epidérmicas, com exceção, apenas, de algumas anexas aos estomas, na face dorsal da folha. (Fig. 1). Êste caráter é bastante significativo do ponto de vista ecológico.

A *epiderme ventral*, desprovida de estomas, é constituída por elementos com  $30\mu$  a  $36\mu$  de altura média, dispostos em camada simples; ocasionalmente, sem que se possa descobrir alguma relação entre êsse fato e qualquer peculiaridade topográfica, um ou outro dêsses elementos se divide horizontalmente, por parede delgada.

A forma geral das células assemelha-se à de um cilindroide, de secção subcircular ou elítica: a foto 2 — de epi-



derme isolada, mostra as bases externas das células, quase sempre arredondadas, e os espessamentos da substância intercelular. O diâmetro máximo dessas bases (paredes periclíneas externas) é frequentemente de  $25\ \mu$  a  $35\ \mu$ .

A cutinização atinge não somente a parede periclínea externa mas, ainda, as porções adjacentes das anticlíneas. E' sempre difícil distinguir essa porção cutinizada, da cutícula pròpriamente dita: assim, quando nos referimos à espessura desta película, na realidade queremos significar

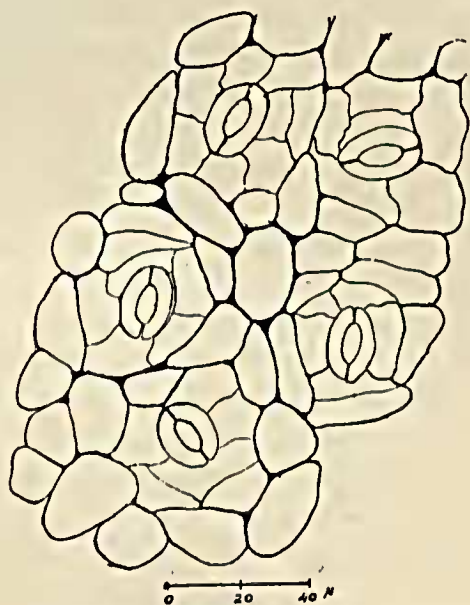


Fig. 1

toda a porção corada à maneira da cutícula, compreendendo esta e mais a parte cutinizada da membrana. A espessura da cutícula é de  $4,8\ \mu$  a  $6,8\ \mu$ , podendo atingir, sôbre a nervura principal,  $8,5\ \mu$ .

A *epiderme dorsal*, também simples, é formado de células geralmente mais altas que as da ventral:  $35\ \mu$  a  $48\ \mu$ , na maioria dos casos. Nos cortes, mostram-se com a forma

geral de tronco de cone, de base superior (parede periclínea interna) maior que a inferior. Vistas de face (fragmento isolado da epiderme, fot. 1; fig. 1) aparecem sob dois tipos: as do primeiro, muito se assemelham às da epiderme superior, com as paredes anticlíneas desprovidas de sinuosidades e de contorno arredondado; as do segundo tipo, de forma muito variável, caracterizam-se pelas paredes anticlíneas frequentemente sinuosas e, em geral, mais delgadas. São estas últimas, as “células anexas”, que se observam em número de 4 a 6 (às vezes 8) à volta de cada estoma. Tanto GROSS (5) como SOLEREDER (10) consignam êsse fato anatómico, sendo que o último o faz do seguinte modo: “The stomata are always surrounded by several epidermal cells,

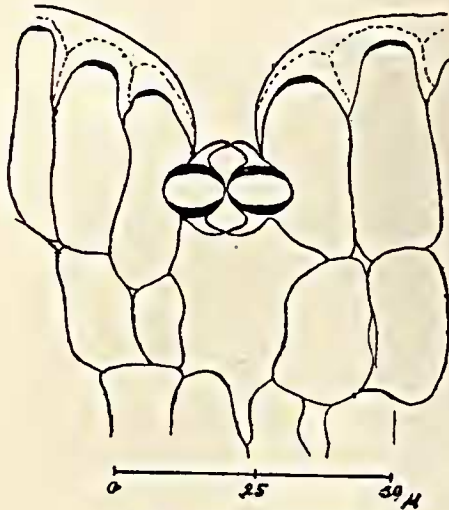


Fig. 2 (semiesquemática)

which are not differentiated by their shape except in *Coccoloba* and *Triplaris*”. METCALFE e CHALK (8) por seu turno, afirmam a respeito dos estomas: “*nearly always ranunculaceous except in Coccoloba which has distinct subsidiary cells*”. A espessura da cutícula é geralmente de  $5,5\ \mu$  a  $7,5\ \mu$ . Além dos dois tipos de células descritas para a epiderme

dorsal cumpre naturalmente assinalar, ainda, o das células estomáticas ou “guardiãs”, muito diferentes dos dois outros.

Tais células, vistas de face, são reniformes e, como de ordinário, limitam a fenda estomática que mede, habitualmente,  $20\ \mu$  a  $30\ \mu$ . Vistas em corte perpendicular à fenda (Fig. 2) apresentam secção ovoide e sua altura é apenas de  $17\ \mu$  —  $21\ \mu$ .

As peculiaridades morfológicas das células-guardiãs são as que se encontram em um dos tipos mais frequentes de estomas, já descrito por SCHWENDENER e, a seguir, por HABERLANDT (6). Ao passo que a face dorsal da parede é fina e celulósica, a ventral, isto é, que confina com a “passagem” do ostíolo, apresenta dois espessamentos conspícuos, reforçados por “cristas” cutinizadas, nas duas arestas, externa e interna; no corte referido, êstes espessamentos aparecem como “bicos” que se projetam, externa e internamente à “passagem”, limitando com os homólogos, duas cavidades ou átrios, que se comunicam através da dita “passagem”. No caso em estudo, as duas cristas são igualmente desenvolvidas. Assim, o trajeto dos gases da atmosfera para a câmara subestomática, compreende: câmara supraestomática, átrio externo, “passagem” do ostíolo e átrio interno. A inserção dessas células sôbre as anexas adjacentes se faz, aproximadamente, no terço médio da altura das últimas, cerca de  $20\ \mu$  abaixo da cutícula. Há, portanto, câmaras supraestomáticas que, na foto 1, aparecem mais claras que o fundo da preparação. Na mesma foto se observa que a orientação dos estomas é inteiramente variável.

Nas diversas contagens que efetuamos, foram encontrados números de estomas compreendidos entre 160 e 175 por  $\text{mm}^2$ .

Ainda na epiderme dorsal, há glândulas complexas, uma das quais é visível na foto 1. Sua estrutura é melhor observada nos cortes transversais (Fig. 3). Verifica-se, então, que um grupo de células secretoras de paredes finas e celulósica repousa em uma depressão da epiderme, sôbre

um elemento semelhante aos desta camada quanto à forma e dimensões; sua superfície livre é recoberta por fina cutícula, mas na extremidade sôbre a qual se apoiam as células secretoras a membrana é celuloso-péctica. Esse elemento se relaciona com um ou dois outros, subepidérmicos, que, por sua vez, são cercados por células esclerosadas.

Nada podemos adiantar, pelos motivos já declarados, sôbre a origem e função dessas glândulas.

A rigidez das folhas adultas, caráter que mais nos chamara a atenção, é devida à dureza da hipoderme, bem diferenciada.

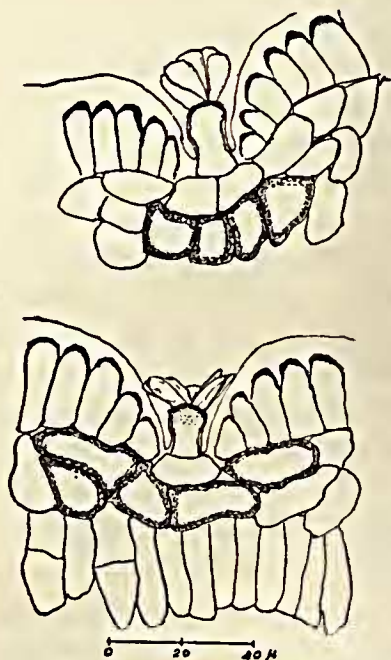
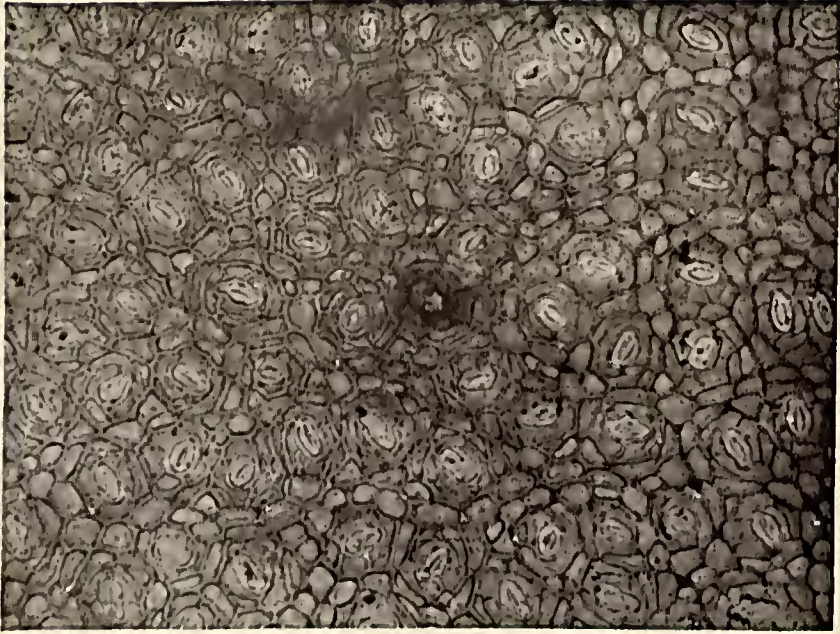


Fig. 3 (dols estádios sucessivos)

#### HIPODERME.

Tanto SOLEREDER (10) como GROSS (5) mencionam a presença dessa camada em *Coccoloba* spp., mas é sòmentê DAMMER (3) quem afirma, a propósito da anatomia das



Fotomicro 1 (ca. 280 ×)



Fotomicro 2 (ca. 280 ×)

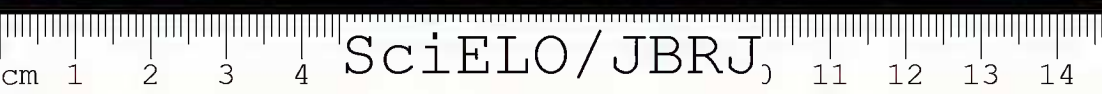
*Polygonaceae*: “Zur Anatomie des Blattes ist zu bemerken, dass sich bei einigen Arten von *Coccoloba* unter der oberen Blattepidermis noch eine Hypodermis aus sklerenchymatischen oder parenchymatischen Zellen befindet”. O primeiro autor citado, nas conclusões do seu tratado (10), menciona vários exemplos de plantas que apresentam hipoderme esclerosada, omitindo, entretanto, as espécies de *Coccoloba*.

Na folha adulta de *C. cereifera* é a hipoderme constituída de esclerócitos, cujas dimensões são bastante variáveis, dispostos ordinariamente em dois estratos. A foto 2 mostra alguns de seus elementos, parcialmente dissociados, abaixo de um fragmento de epiderme superior: por ela se pode ter idéia do contorno, frequentemente bizarro, de suas células; quase sempre, porém, a maior dimensão desses elementos é paralela à superfície da folha.

Suas paredes são moderadamente espessadas e ricas de pontuações simples. Para se apreciar corretamente essa espessura é necessário examinar os esclerócitos em meio aquoso, porque a desidratação lhes reduz, de maneira acentuada, a grossura das membranas.

Por êsse motivo, e ainda porque o ácido nítrico a 1/3, usado para a dissociação, fez surgir estrias e falhas na espessura dessas paredes, julgamos que as mesmas contenham grande percentagem de hemiceluloses.

Em certos pontos da hipoderme (vista em corte transversal) encontra-se um só esclerócito, mais desenvolvido, a ocupar o espaço que comumente corresponde a duas células. Ao envés, em relação com certas nervuras de ordem inferior, a hipoderme parece projetar-se em direção ao mesófilo, aumentando o número de seus elementos. Isso se faz à custa da própria paliçada, pelo espessamento e lenhificação de algumas de suas células (V. foto 3). Há, na realidade, frequente ligação da hipoderme com a bainha esclerenquimatosa dos feixes; a junção se faz, porém, por meio de elementos da própria bainha, como se dirá adiante.

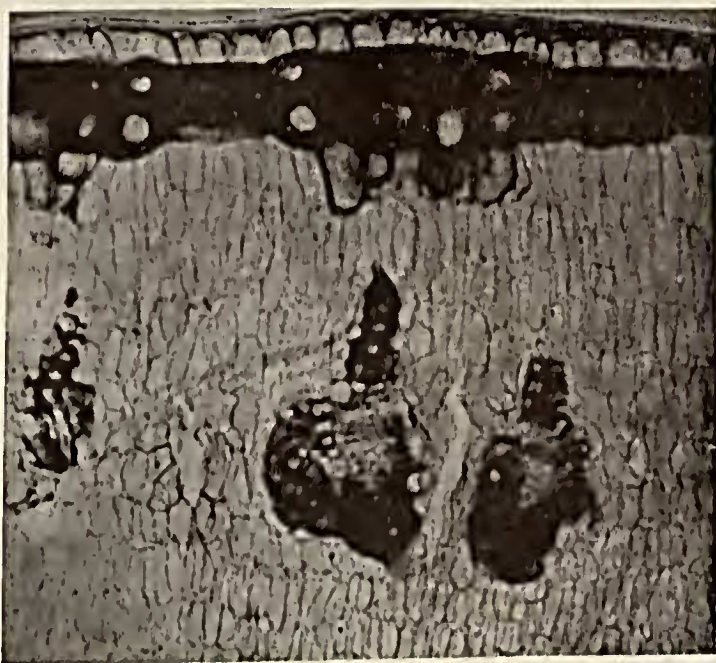




### MESÓFILO.

A folha adulta é, em *C. cereifera*, do tipo subcêntrico: o clorênquima constitui paliçadas, em ambas as faces do limbo, separadas por 3-4 estratos de tecido lacunoso.

A da face ventral compõe-se de 2 a 3 (raramente 4) camadas de elementos, ora típicos, com  $72\mu$  de altura por  $13\mu$  de base, ora com a metade da altura indicada, em consequência à divisão horizontal; a da dorsal é constituída

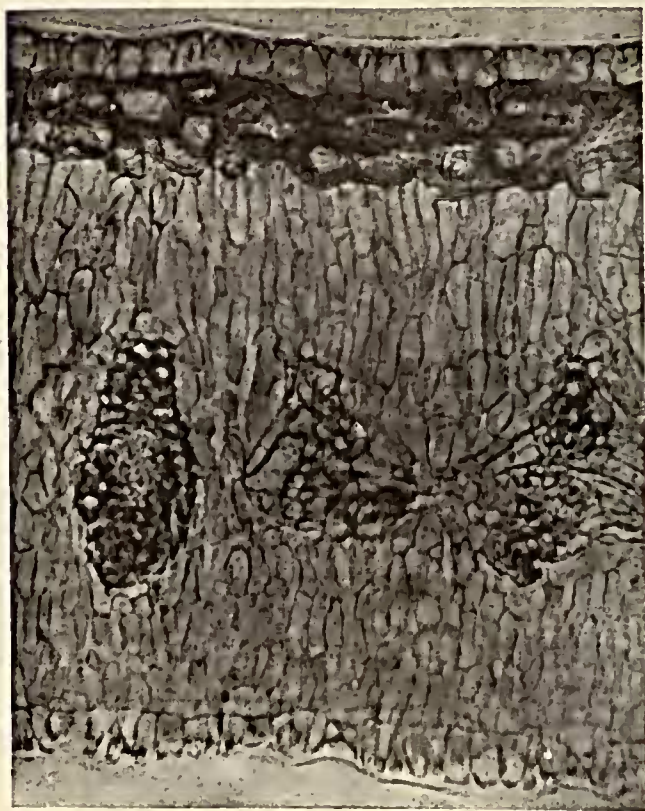


Fotomicro 3 (ca. 140 ×)

de células menos típicas (como por exemplo, de  $47\mu \times 11\mu$  ou  $55\mu \times 15\mu$ ) cuja altura, frequentemente, oscila em torno de  $37\mu$ , apenas. No tecido lacunoso encontram-se grandes meatos limitados por células um pouco mais altas que largas, dispostas em 3 a 4 estratos. E' nesse tecido que caminham os feixes líbero-lenhosos das nervuras.

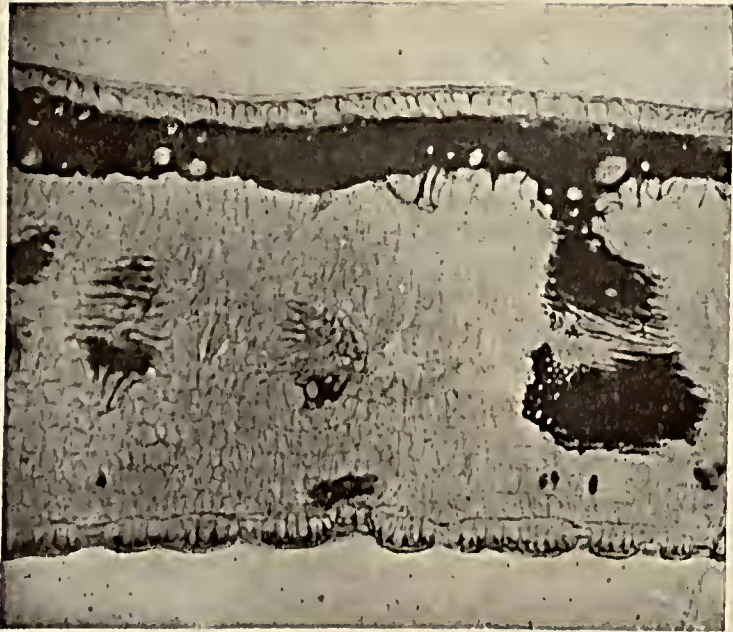
No clorênquima se encontram elementos aproximadamente isodiamétricos que contêm drusas típicas de oxalato de cálcio. DAMMER (3) já acentuára, aliás: "*Sehr häufig treten Krystalldrusen im Blatt auf*".

O esclerênquima é muito desenvolvido como, aliás, GROSS (5) e SOLEREDER (10) já tinham assinalado para as

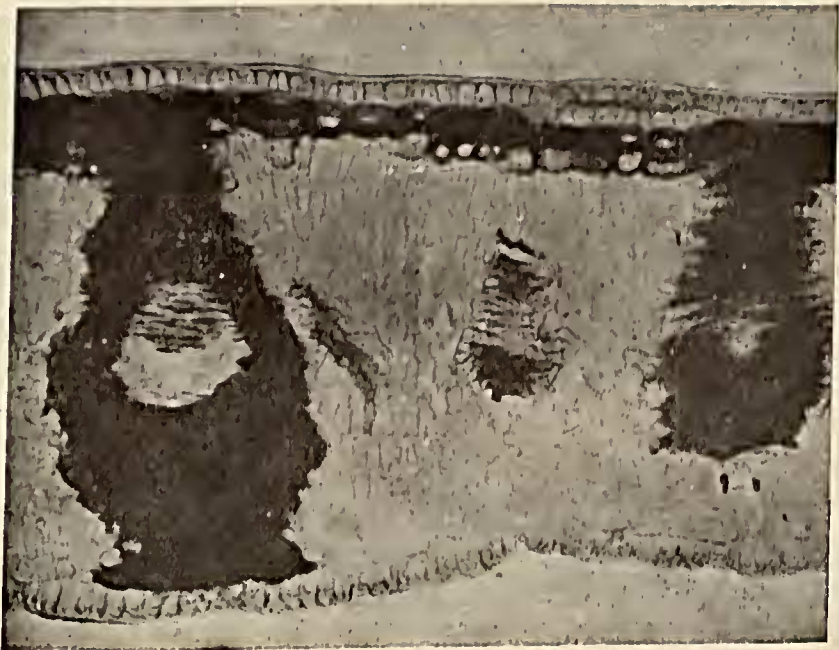


Fotomicro 4 (ca. 140 ×)

espécies de *Coccoloba*. Há sempre conscípuos reforços, constituídos de fibras típicas, que acompanham as nervuras, pelo menos do lado do liber. Dêste lado são muito desenvolvidos os cordões esclerenquimatosos da nervura principal;



Fotomicro 5 (ca. 100 ×)



Fotomicro 6 (ca. 100 ×)

além do esclerênquima, reduzido do lado do lenho, há também que notar, nessa nervura, a esclerose de células subepidérmicas em ambas as faces.

Nas ramificações de primeira ordem, ampla massa de esclerênquima cerca inteiramente os feixes condutores e se prolonga, verticalmente, na direção de ambas as epidermes, atingindo a inferior e fundindo-se com a hipoderme (foto 6); nas de segunda ordem, a bainha esclerosada cerca ainda inteiramente os feixes, mas se prolonga, somente, em direção à hipoderme, com a qual se funde; nas de terceira ordem, prolonga-se a bainha na mesma direção, sem, todavia, atingir a hipoderme que se apresenta, então, mais profunda à custa da paliçada, como já foi assinalado. Finalmente, nas de ordem subsequente, o esclerênquima, às vezes muito reduzido, aparece adjacente ao liber como se vê na foto 5.

Nesta mesma foto se observa a esclerose de elementos paliçádicos da face dorsal, quando em contato com as glândulas já descritas.

Em síntese, o corte perpendicular do limbo pode ser assim esquematizado, quanto à participação dos tecidos na estrutura foliar:

|  |               |
|--|---------------|
| Epiderme ventral (camada simples) e cutícula | ca. 40 $\mu$  |
| Hipoderme esclerosada (2 camadas)            | ca. 70 $\mu$  |
| Paliçada ventral (2-3-4 camadas)             | ca. 155 $\mu$ |
| Tecido lacunoso (3-4 camadas)                | ca. 125 $\mu$ |
| Paliçada dorsal (3-4 camadas)                | ca. 145 $\mu$ |
| Epiderme dorsal (camadas simples e cutícula) | ca. 48 $\mu$  |

---

583  $\mu$

Trata-se, portanto, de folha relativamente espessa, rica de elementos esclerosados e dotada de epiderme bastante cutinizada o que permite qualificar-se de "esclerófila" a *Coccoloba cereifera*.

## CONSIDERAÇÕES ECOLÓGICAS.

Como foi dito no início dêste trabalho, a planta em estudo é encontrada no alto da Serra do Cipó, às margens desprotegidas da estrada, onde está sujeita a intensa insolação. Pareceu-nos, pois, digno de interêsse o confronto entre os caracteres anatômicos aqui descritos e os que foram apontados na obra fundamental de WARMING (cuja primeira edição data de 1895) para os vegetais heliófilos. Vejamos, extraídos da tradução ingleza (11) algumas assertivas dêsse Autor (pág. 19): "*Leaves of heliophytes are often sharply or almost vertically upwards .... The histology of leaves produced in the sunlight and shade respectively is not less different: Heliophylls are often isolateral, namely, when they are erect and their two surfaces are consequently equally illuminated; ... Heliophylls have a thick palissade tissue, which owes its thickness either to the length of the palissade cells or to the presence of additional layers of them, or to both these characters ... Spongy parenchyma is relatively more developed in sciophylls. Heliophylls are thicker than sciophylls. Heliophylls have small intercellular spaces, sciophylls have larger ones*"; (pág. 20): "*The epidermis of the heliophyll is often very glossy and a good reflector of light, as is demonstrated by many tropical examples; ... The epidermal cells of heliophylls have less sinuous lateral walls than those of sciophylls. Stomata of the dorsiventral heliophylls are confined to the lower surface, or are more numerous there than on the upper face (except in some alpine plants) and are often sunk below the level of the surface ... Lignified parts are more general in heliophytes than in sciophytes ... Heliophylls are often stiff and coriaceous (sclerophyllous plants), partly from lignification, partly because of their thickness, and partly of the nature of the epidermis ... Light influences the coloration of plants by its action in regard to the production not only of chlorophyll but also of red cell-sap (anthocyan-*

or erythrophyll). The pigment occurs specially in young parts of plants (in young shoots or seedlings).....

Feito o confronto, força é convir que as características anatômicas, que observamos, se enquadram exatamente nesse esboço traçado por WARMING. A própria esclerose da hipoderme, não prevista no esquema, pode ser compreendida na tendência à lenhificação, nelle aludida. Não é, pois, de admirar tenham sido confirmadas pelos trabalhos ulteriores, as conclusões seguintes, de caráter mais geral (11): "*That lighth is of greater significance in influencing the external and internal construction of plants is beyond doubt ... As to the exact method in which light acts physiologically our notions are very hazy*".

Na verdade, vários fatores atuam, simultâneamente, sôbre a planta heliófila, produzindo os resultados referidos: eis porque, como também acentuou WARMING (11), o vegetal assume caracteres xeromórficos. BRIGHT (1), na mesma ordem de idéias, confirma: "*From the preceding survey it can be gathered that the modifications brought about by increased exposure are such as will tend to decrease transpiration, conserve the water supply of the plant, provide additional mechanical tissue and increase photosynthesis*".

A dificuldade maior está em discriminar quais os efeitos relacionados com a própria ação da luz e quais os que dependem de cada um dos outros fatores.

EBERHARDT (4) atribuia, já em 1903, à influência do ar sêco, diversos caracteres acima apontados. Tratando dêsse fator, dizia: "*Augmente, comme nous l'avons déjà dit, l'épaisseur des feuilles; cet épaississement est dû au développement que prend le tissu en palissade et qui compense et au dela la diminution simultanée du tissu lacuneux, dont les lacunes prennent d'ailleurs des dimensions plus reduites et sont moins nombreuses ... Enfin, il diminue la sinuosité des parois des cellules épidermiques dont il réduit les dimensions*". As mesma peculiaridades anatômicas são rela-

cionadas no recente estudo de CURÉ (2), ainda com o ar sêco, mas de outra maneira: *“Le fait de mettre à la disposition d’une plante une certaine quantité de vapeur d’eau dans un temps donné ne détermine d’une façon absolue ni la croissance, ni la structure de la plante. Le rythme suivant lequel cette vapeur est fournie a une importance considérable. Les courtes périodes tendent à produire des hygromorphoses, des longues périodes à produire des xeromorphoses”*.

Por outro lado, são numerosos os trabalhos que responsabilizam a própria luz por alguns dos caracteres observados e, especialmente, pela presença de parênquima paliçádico.

Em publicação muito recente WYLIE (13) investigou as diferenças anatômicas existentes entre as folhas dispostas na porção externa da copa (porções sul e norte) e na interna. As últimas apresentavam, em todas as dez espécies arbóreas examinadas, parênquima paliçádico nitidamente reduzido, comparativamente às primeiras. Citaremos, ainda, o estudo de WATSON (12) onde são relatadas experiências morfogenéticas em folhas jovens da hera. Conseguiu êsse Autor provocar o aparecimento da paliçada, que as mencionadas folhas habitualmente não possuem, submetendo-as a intensa iluminação. Suas investigações foram orientadas no sentido de isolar os fatores morfogenéticos, tendo sido apontados, como essenciais, a própria luz e a dessecação das camadas celulares superficiais. A propósito da primeira, assim se expressa: *“That light has a direct influence on the formation of palisade cells was however indicated by a further experiment where it was found that with a light intensity four times as great palisade tissue developed even in saturated air”*.

Admitindo-se, como provada, essa influência, compreende-se, fàcilmente, dada a posição das folhas, a existência de paliçada em ambas as faces. O que, à primeira vista, pode parecer de difícil interpretação é o fato de estar relativamente mal diferenciada a paliçada da face ventral. A difi-

culdade desaparecerá, no entanto, se atentarmos na presença da hipoderme lenhosa, naturalmente pouco permeável à luz, e que reduz, por isso mesmo, a influência morfo-genética dêsse fator.

## RESUMO

*Coccoloba cereifera* Schw. é planta heliófila, encontrada na Serra do Cipó. Suas folhas, de côr violácea e induto ceroso, especialmente quando jovens, estão orientadas em direção oblíqua, próxima da vertical.

Quanto à estrutura, apresentam caracteres xeromórficos e denunciadores de exposição à luz intensa, perfeitamente concordes com os apontados por WARMING: células epidérmicas com paredes não sinuosas dotadas de espessamentos mucilaginosos e cutícula relativamente espessa, disposta em camada simples; estomas (160-175 por  $\text{mm}^2$ ) exclusivamente localizados na face dorsal, cêrca de 20% abaixo da cutícula, cercados de 4-6 (8) células anexas; mesófilo subcêntrico que, compreende paliçada ventral, com 2-3 (4) camadas, lacunoso médio, com 3-4 fileiras, onde correm as nervuras e paliçada dorsal, também com 3 ou 4 camadas; hipoderme (2 camadas) fortemente esclerosada que, certamente, diminue a influência morfo-genética da luz sôbre a paliçada ventral; esta é, na verdade, pouco característica. Abundante esclerênquima cerca os feixes condutores, prolongando-se, frequentemente, em direção à hipoderme e, nas nervuras de primeira ordem, também para a face dorsal. Geralmente são esclerosadas as células que guarnecem, pela parte interna, certas glândulas existentes na epiderme dorsal.

## ABSTRACT

The leaves of *Coccoloba cereifera* Schw. have a subcentric structure; epidermis with mucillaginous thickenings, thick cuticle and wax-coating; stomata (160-175/ $\text{mm}^2$ ) with 4-6 (8) subsidiary cells, confined to the abaxial sur-





face; embedded in the latter, epidermic glands limited form the mesophyll by sclerotic cells; two layers of lignified *hipoderm* elements; *mesophyll* consisting of several layers of ill-defined palisade cells and spongy tissue in the central parte; *vascular bundles* sheathed by sclerenchyma (in the minor veinelets the sclerenchyma is confined to the phloem side).

The above described anatomical features, the almost vertical direction of the leaves, and the violet colour (anthocyan) of the plant especially of its young parts, are referred to the influence of light, as WARMING had stated since 1909 for the heliophytes.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 — BRIGHT, D. N. E. 1928 — The Effects of Exposure upon the Structure of certain Heat-Plants — Journ. of Ecology, 16: 323-365.
- 2 — CURÉ, P. 1941 — Evaporation et respiration. Action des alternances de secheresse et d'humidité sur la structure des plantes — Thèse — Toulouse.
- 3 — DAMMER, U. 1893 — Polygonaceae: in Die Natürlichen Pflanzenfamilien — III T. 1 Abt.
- 4 — EBERHARDT, P. 1903 — Influence de l'air sec et de l'air humide sur la forme et sur la structure des végétaux. Thèse — Paris.
- 5 — GROSS, H. 1913 — Beiträge zur Kenntnis der Polygonaceen. Bot. Jahrb. f. Syst. Pfl. ges. und Pfl. geog. 49, 234-348.
- 6 — HABERLANT, G. 1928 — Physiological Plant Anatomy — (English Translation) — London.
- 7 — JOHANSEN, D. A. 1940 — Plant Microtechnique — New York & London.
- 8 — METCALFE, C. R. & CHALK, L. 1950 — Anatomy of the Dicotyledons — 2 vol. Oxford.
- 9 — SCHWAKE, W. 1898 — Plantas novas mineiras. Fasc. I — Ouro Preto.
- 10 — SOLEREDER, H. 1908 — Systematic Anatomy of the Dicotyledons. (English Translation) — Oxford.
- 11 — WARMING. 1909 — Oecology of Plants — Oxford.
- 12 — WATSON, R. W. 1942 — The mechanism of elongation in palisade-cells — The New Phytol. 41: 206-221.
- 13 — WYLIE, R. B. 1951 — Principles of foliar organization shown by sun-shade leaves from ten species of deciduous dicotyledonous trees — Am. Jour. of Bot. 38: 355-361.